

А.Н. Лешкевич

## ИЗУЧЕНИЕ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО ПОВЕДЕНИЯ НОВОКАИНА, НОВОКАИНАМИДА, ТРИМЕКАИНА И ЛИДОКАИНА НА СИЛИКАГЕЛЕ

Витебский государственный медицинский университет

*В настоящей работе представлены результаты исследования хроматографического поведения ряда третичных аминов на силикагеле в ион-парных системах растворителей, дано описание моделей удерживания сорбатов применительно к выбранным подвижным фазам. Изучено влияние природы и концентрации органического растворителя, а также концентрации противоиона на подвижность и эффективность разделения третичных аминов. Обнаружено, что использование ион-парных систем позволяет разделить некоторые сходные по строению вещества.*

Одной из проблем фармацевтического и токсикологического анализа является эффективное разделение и определение близких по структуре соединений. Изучаемые вещества находят широкое применение в качестве местноанестезирующих, антиаритмических лекарственных средств и относятся к группе третичных аминов. Известные методики разделения данных соединений и их метаболитов с применением хроматографии в тонких слоях имеют некоторые недостатки (применение многокомпонентных подвижных фаз (ПФ), состоящих из органических растворителей и аммиака, токсичность органических растворителей). Высокая эффективность разделения третичных аминов при применении ион-парных систем делает их перспективными в фармацевтическом и токсикологическом анализе.

Целью настоящей работы является изучение хроматографических характеристик некоторых третичных аминов (новокаин, новокаинамид, N-ацетилновокаинамид, лидокаин, тримекаин) в ион-парных системах, описание моделей удерживания сорбатов применительно к выбранным подвижным фазам.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Разделение исследуемых веществ проводили на пластинах "Сорбфил", сорбент Силикагель

СТХ-1ВЭ (зернение 8-12 мкм). Для проявления применяли реактив Драгендорфа [3]. Подвижные фазы представляли собой бинарные системы типа вода – органический растворитель с добавлением неорганических солей. В качестве последних применяли хлориды, бромиды, нитраты, сульфаты натрия. Растворы разделяемых веществ готовили из стандартных образцов, соответствующих требованиям НД. Стандарт N-ацетилновокаинамида получали по методике [2]. Системы растворителей, используемых в качестве подвижных фаз, готовили растворением соответствующей соли в определенном объеме очищенной воды и добавлением определенной массы органического растворителя в мерной колбе вместимостью 25 мл.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Разделение веществ основного характера на силикагеле основано на различии в адсорбционных свойствах хроматографируемых веществ. При сорбции из бинарных растворов, состоящих из полярного органического растворителя и воды, между сорбентом и органическим растворителем возникает конкуренция за места связывания с сорбентом. Удерживание и разделение веществ зависит от природы и концентрации ион-парного реагента, а также от концентрации органического растворителя в подвижной фазе. Отмечено, что подвижность исследуемых веществ зависит от концентрации противоиона в подвижной фазе. Данная зависимость представлена на рисунке и выражается уравнением [4]:

$$R_m = a \lg (1/C_a) + b, \quad (1)$$

где  $C_a$  – концентрация противоиона в подвижной фазе;

$a$  и  $b$  – коэффициенты линейной регрессии.

Коэффициенты уравнения (1), а также коэффициенты корреляции представлены в таблице 1. Результаты показывают, что угловой коэффициент практически не зависит от вида противоиона и отражает стехиометрию реакции.

Изучена зависимость хроматографических характеристик (высота, эквивалентная теоретической тарелке ( $h$ ), разделяющая способность) третичных аминов от вида полярного органического растворителя. Разделяющую способность ( $R$ ) определяли по формуле:

$$R = 24(R_{f(2)} - R_{f(1)}) / (b_{0,5(1)} + b_{0,5(2)}) \quad (2)$$

Пробег ( $R_f$ ) выражен в мм.

Результаты представлены в таблице 2.

Модель Снайдера-Сочевинского для изучаемых веществ в системах с этанолом и ацетоном представлена на рисунке 2.

Модели Снайдера-Сочевинского и Скотта-

Таблица 1

**Значения подвижности  $R_m$  веществ и коэффициенты уравнения (1) в ПФ ацетон-вода (1:1) с добавлением неорганических солей**

Соединение	Анион	Значения $R_m$ при концентрации аниона в ПФ, моль/л					a	b	$r^2$
		0,005	0,01	0,02	0,03	0,04			
Новокаин	$Cl^-$	0,450	0,315	0,216	0,131	0,092	0,39	-0,46	0,997
	$NO_3^-$	0,410	0,333	0,242	0,124	0,106	0,35	-0,39	0,971
	$ClO_4^-$	0,414	0,345	0,18	0,117	-	0,40	-0,49	0,973
Новокаин-амид	$Cl^-$	0,841	0,610	0,463	0,337	0,277	0,62	-0,59	0,994
	$NO_3^-$	0,792	0,633	0,496	0,350	0,302	0,55	-0,47	0,992
	$Br^-$	0,757	0,653	0,486	-	-	0,45	-0,27	0,982
	$ClO_4^-$	0,788	0,633	0,439	0,331	-	0,59	-0,57	0,998
N-ацетил-новокаин-амид	$Cl^-$	0,764	0,591	0,414	0,310	-	0,58	-0,58	0,999
	$NO_3^-$	0,704	0,594	-	0,350	0,273	0,48	-0,39	0,994
	$Br^-$	0,692	0,581	0,459	-	-	0,39	-0,2	0,999
	$ClO_4^-$	0,707	0,591	0,406	0,311	-	0,52	-0,47	0,990

Таблица 2

**Значения эффективности (h) и разделяющей способности (R) в ПФ вода-органический растворитель (1:1) с концентрацией натрия хлорида в подвижной фазе 0,05 моль/л**

растворитель	h, мм					R		
	1	2	3	4	5	1/2	2/3	4/5
этанол	0,184	0,45	0,188	0,021	0,031	2,108	0,571	0,08
пропанол-1	0,165	0,171	0,195	0,034	0,004	3,494	1,054	1,771
пропанол-2	0,194	0,789	0,182	0,025	-	2,559	0,809	-
трет.-бутанол	0,234	1,429	0,239	0,012	0,019	2,593	0,913	1,463
тетрагидрофуран	0,118	0,367	0,209	0,029	0,024	2,765	0,275	0,337
диоксан	0,251	0,324	0,107	0,022	0,026	1,581	0	0,538
ацетон	0,15	0,096	0,063	0,026	0,028	1,423	0,024	0,152
ацетонитрил	0,088	0,141	0,04	0,02	0,011	2,035	0,180	0,529

1 – новокаин, 2 – новокаинамид, 3 – N-ацетилновокаинамид, 4 – лидокаин, 5 – тримекаин.

Из выбранных органических растворителей наибольшая эффективность разделения наблюдается в системах с ацетонитрилом и трет-бутанолом – для тримекаина и лидокаина. Для новокаина, новокаинамида и N-ацетилновокаинамида наилучшие результаты получены при использовании ацетонитрила и ацетона.

Основные закономерности взаимодействия разделяемых веществ с сорбентом описываются моделями удерживания, представляющими собой зависимости между концентрациями органического растворителя в ПФ и хроматографическими параметрами удерживания. Удерживание третичных аминов на силикагеле описывали моделями Скотта-Кучеры и Снайдера-Сочевинского.

Кучеры для систем с этанолом и ацетоном ( $r > 0,95$ ) описывают удерживание данных третичных аминов не во всем диапазоне концентраций органического растворителя от 5 до 90%. В системах с этанолом линейные зависимости для новокаина наблюдаются только при содержании этанола от 20 до 70% (по объему), для остальных соединений при содержании этанола до 50% (по объему). В системах с ацетоном линейные зависимости для новокаинамида и N-ацетилновокаинамида характерны при содержании органического растворителя от 10 до 60%, для новокаина, лидокаина и тримекаина линейные зависимости наблюдаются во всем диапазоне концентраций. Как отмечалось в работе [1], подобные отклоне-

ния от линейных зависимостей указывают на влияние взаимодействий между молекулами органического модификатора в подвижной фазе. Представленные графические зависимости описываются уравнениями:

$$\lg k' = a - b \lg c \text{ (Снайдера-Сочевиньского) (3),}$$

где  $b$  – число молекул растворителя, вытесняемое одной молекулой сорбата.

$$1/k' = c + d c \text{ (Скотта-Кучеры) (4).}$$

Отмечено, что замена сложноэфирной группы (новокаин) на амидную (новокаинамид)

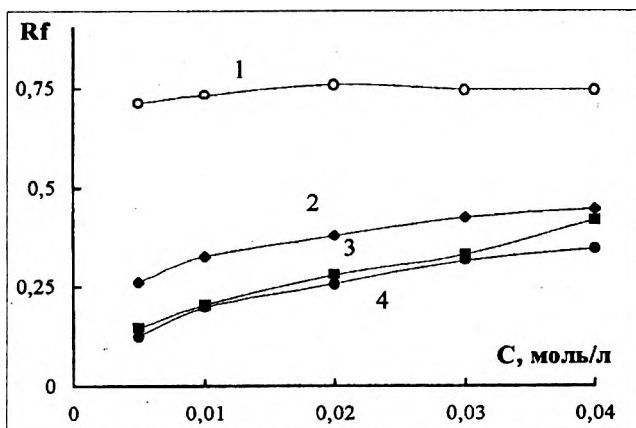


Рис.1. Зависимость подвижности ( $R_f$ ), изучаемых веществ, от концентрации хлорид-ионов в ПФ. 1 – тримекаин, 2 – новокаин, 3 – N-ацетилновокаиnamид, 4 – новокаиnamид.

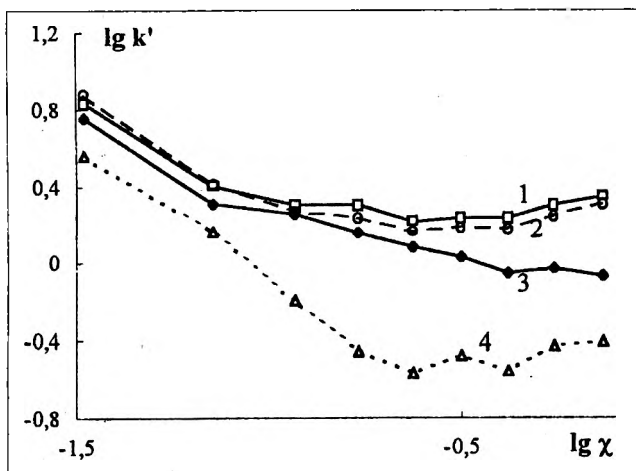


Рис.2. Зависимость логарифма коэффициента емкости ( $k'$ ) от логарифма молярной доли этанола ( $\chi$ ) (модель Снайдера-Сочевиньского). 1 – новокаиnamид, 2 – N-ацетилновокаиnamид, 3 – новокаин, 4 – лидокаин.

приводит к увеличению удерживания. Замещение водорода первичной ароматической аминогруппы на ацетил (N-ацетилновокаиnamид) приводит к увеличению подвижности, что связано, по-видимому, со стерическим экранированием атома

азота первичной ароматической аминогруппы. Введение метильной группы (лидокаин и тримекаин) в бензольное кольцо существенного влияния на хроматографические характеристики третичных аминов в данных условиях разделения не оказывает, так как гидрофобные взаимодействия не вносят существенного вклада в адсорбцию на силикагеле.

## ВЫВОДЫ

Использование ион-парных систем позволяет существенно повысить эффективность разделения данных веществ по сравнению с ранее предложенными элюентами, разделять близкие по строению соединения (тримекаин и лидокаин; новокаин, новокаиnamид, N-ацетилновокаиnamид). Предлагаемые системы будут в дальнейшем использованы нами для обнаружения данных соединений в лекарственных препаратах и биологических объектах.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ланин С.Н., Ланина Н.А., Никитин Ю.С. Влияние ассоциации молекул сорбата и модификатора в подвижной фазе на удерживание в ВЭЖХ // Журнал физ. химии. - 1995. - том 69. - № 11. - С. 2045-2051.
2. Метод анализа новокаиnamида и его основного метаболита N-ацетильного производного в сыворотке крови с применением ВЭЖХ / Холодов Л.Е., Соколов А.В., Драгунов А.А. и др. // Хим.-фармац. ж. - 1983. - № 7. - С. 868 - 871.
3. Хроматография на бумаге. / Под ред. И.М. Хайса и К. Мацека М: Изд-во иностр. литературы, 1962. - С. 747
4. Giebelmann R. Ionenpaaradsorptionsdunnschichtchromatografie quarterer ammoniumonen.
5. Retentionsgleichung fur Kieselgel // Pharmazie.-1981.-Bd.36, № 11.-S. 786-787.

## SUMMARY

A.N. Liashkevich

### STUDY OF CHROMATOGRAPHIC BEHAVIOR OF NOVOCAINE, NOVOCAIN-AMIDE, TRIMECAINE AND LIDOCAINE ON SILICA GEL

The results of investigation chromatographic behavior of some tertiary amines in ion-pair systems on silica gel have been presented in this work, description of retention models of sorbats for chosen mobile phase has been given. The influence of nature and amount of organic solvent, concentration counterion on retention and efficacy of separation tertiary amines has been studied. It was found that using of ion-pair systems makes it possible to separate some chemically similar structure substances.